

## 加藤季夫：プロピオンカーミン染色によるピレノイド・センターの2つの型の識別

Sueo Kato: Discrimination of two types of pyrenoid centres by staining with propionocarmine.

*Key Index Words:* *Euglena viridis*—*Eutreptiella eupharyngea*—propionocarmine—pyrenoid centre—staining.

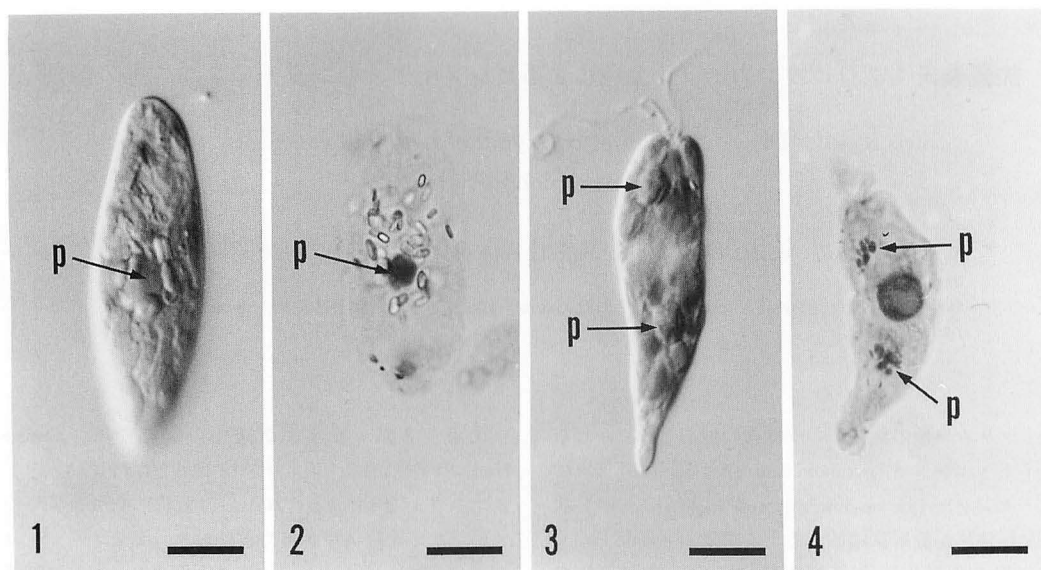
Sueo Kato, Laboratory of Natural Science, Kokugakuin University, Higashi 4-10-28, Shibuya-ku, Tokyo, 150 Japan

ミドリムシ類の葉緑体の5種類の型の1つに、ピレノイド・センター (pyrenoid centre) あるいはパラミロン・センター (paramylon centre) から多くのリボン状の葉緑体片が放射状に広がる型がある (Leedale 1967)。この型の葉緑体の微細構造は電子顕微鏡を用いて *Euglena viridis* Ehr. で調べられ (Leedale 1982), そのピレノイド・センターは1つのピレノイドからできていると報告されている。ところが, Walne *et al.* (1986) は *Eutreptiella eupharyngea* Walne *et al.* の葉緑体を電子顕微鏡で観察し, そのピレノイド・センターは *Euglena viridis* のものとは異なり, 多くのリボン状の葉緑体片の先端にあるピレノイドが集まって出来ていると報告している。このことから, ピレノイド・センターには2つの型があることが明らかになった。ピレノイド・センターがどちらのつくりをしているかは電子顕微鏡による観察でしか識別できないと考えられてきたが, 今回, ピレノイドの染色に用いられるプロピオンカーミン (Rosowski and Hoshaw 1970) でピレノイド・センターを染色することにより, 光学顕微鏡による観察でも両者を容易に識別できることが判明したので, ここで報告する。

材料と方法: 実験には *Euglena viridis* のクローン培養株 E-1164 (神奈川県横浜市緑区の早淵川, 1991年2月28日採集) と *Eutreptiella eupharyngea* のクローン培養株 ME-64 (神奈川県横須賀市佐島港, 1991年4月24日採集) の2株を用いた。培養は温度 20°C, 照度 3000 lux, 12時間明期・12時間暗期の明暗周期の条件下で行い, E-1164 株には AF-6 培地 (加藤1982) を, ME-64 株には PES 培地 (Provasoli 1966) をそれぞれ用いた。ピレノイド・センターの染色は対数増殖期の藻体を用い, プロピオンカーミン (固定時間10分, 1/10濃度の媒染液で媒染時間10分, 染色時間5分) で行った。

結果と考察: 光学顕微鏡での観察では, *Euglena viridis* の葉緑体はパラミロン粒で囲まれたピレノイド・センター (Fig. 1) とそれから放射状に広がる多くのリボン状の葉緑体片からできており, ピレノイド・センターはプロピオンカーミンで染色すると1つの暗紫色の塊となっていた (Fig. 2)。一方, *Eutreptiella eupharyngea* の葉緑体もパラミロン粒で囲まれたピレノイド・センターとそれから放射状に広がる多くのリボン状の葉緑体片からできており, *Euglena viridis* の葉緑体と同様のつくりをしているようにみえるが, そのピレノイド・センターはプロピオンカーミンで染色すると多くの小さい暗紫色の粒に分れていた (Fig. 4)。*Eutreptiella eupharyngea* をノマルスキー式微分干渉装置を用いて観察すると, ピレノイド・センターは微かに分れているようにもみえる (Fig. 3)。しかし, このような像は *Euglena viridis* においてもみられることから, 染色なしにはピレノイド・センターがどちらの型かは判断が困難である。

今回のピレノイド・センターの染色による観察結果は, 電子顕微鏡での *Euglena viridis* (Leedale 1982) と *Eutreptiella eupharyngea* (Walne *et al.* 1986) の観察結果と一致しており, ピレノイド・センターが1つのピレノイドからできているか, それとも, 多くのピレノイドが集まってできているかは, プロピオンカーミンでピレノイド・センターを染色することにより光学顕微鏡でも容易に判断できることがわかった。ミドリムシ類のうち, *Eutreptia* 属, *Eutreptiella* 属および *Euglena* 属の *Radiatae* 亜属のものはピレノイド・センターから多数のリボン状の葉緑体片が放射状に広がる葉緑体をもっているが, そのピレノイド・センターがどちらの型かについて明確になっているのは *Euglena viridis* と *Eutreptiella eupharyngea* の他には *Eutreptia pertyi* Pringsheim (Dawson and Walne 1991) に限られていると思われる。



Figs. 1-2. *Euglena viridis*. 1. A cell not stained. 2. A cell stained with propionocarmine. A pyrenoid centre is composed of one pyrenoid.

Figs. 3-4. *Eutreptiella eupharyngea*. 3. A cell not stained. 4. A cell stained with propionocarmine. Two pyrenoid centres are composed of many small pyrenoids. p: pyrenoid centre. Scale bars: 10  $\mu$ m.

上記の3種のミドリムシ類以外のものについても、そのピレノイド・センターがどちらかのつくりをしているかについて今後調べる必要があり、それに関して、このプロピオンカーミンによる染色法は処理が簡単で確実に識別できることから、有効な手段の1つと考えられる。

## 文 献

- Dawson, N. S. and Walne, P. L. 1991. Structural characterization of *Eutreptia pertyi* (Euglenophyta). I. General description. *Phycologia* 30: 287-302.
- 加藤季夫 1982. *Colacium vesiculosum* Ehr. の培養と形態. 藻類 30: 63-67.
- Leedale, G. F. 1967. *Euglenoid Flagellates*. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.
- Leedale, G. F. 1982. Ultrastructure, p. 1-27. In D. E. Buewto [ed.], *The biology of Euglena*. vol. 3. Academic Press, London and New York.
- Provasoli, L. 1966. Media and prospects for the cultivation of marine algae, p. 63-75. In Watanabe, A. and Hattori A. [ed.], *Culture and Collections of Algae*. Proc. U.S.-Japan Conf. Hakone, Sept. 1966. Jap. Soc. Plant Physiol.
- Rosowski, J. R. and Hoshaw, R. W. 1970. Staining algal pyrenoids with carmine after fixation in an acidified hypochlorite solution. *Stain Tech.* 45: 293-298.
- Walne, P. L., Moestrup, Ø, Norris, R. E. and Ettl, H. 1986. Light and electron-microscopical studies of *Eutreptiella eupharyngea* sp. nov. (Euglenophyceae) from Danish and American waters. *Phycologia* 25: 109-126.